

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-3248

⑬ Int.Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和63年(1988)1月8日

G 01 N 27/30  
27/46

J-7363-2G  
M-7363-2G

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 バイオセンサ

⑯ 特 願 昭61-146391

⑰ 出 願 昭61(1986)6月23日

⑱ 発 明 者	南 海 史 朗	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑲ 発 明 者	河 栗 真 理 子	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑲ 発 明 者	飯 島 孝 志	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑳ 出 願 人	松下電器産業株式会社	大阪府門真市大字門真1006番地	
㉑ 代 理 人	弁理士 中尾 敏男	外1名	

明 細 書

1、発明の名称

バイオセンサ

2、特許請求の範囲

- (1) 少なくとも測定極と対極からなる電極系を設けた絶縁性の基板を備え、酵素と電子受容体と試料液の反応に際しての物質濃度変化を電気化学的に前記電極系で検知し前記試料液の基質濃度を測定するバイオセンサにおいて、前記電極系がスクリーン印刷で形成されたカーボンを主体とする材料からなり、かつ少なくとも測定極表面は研磨された後に熱処理を施され、酸化還元酵素および電子受容体を担持した多孔体で電極系を覆い、多孔体を電極系および前記基板とともに一体化したことを特徴とするバイオセンサ。
- (2) 電極系が測定極、対極、参照極から構成されている特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。
- (3) 熱処理の温度が60℃～170℃である特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

3、発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、種々の微量の生体試料中の特定成分について、試料液を希釈することなく迅速かつ簡易に定量することのできるバイオセンサに関する。

従来の技術

従来、血液などの生体試料中の特定成分について、試料液の希釈や攪拌などの操作を行うことなく高精度に定量する方式としては、第4図に示す様なバイオセンサが提案されている(例えば、特開昭59-166852号)。このバイオセンサは、絶縁基板9にリード12、13をそれぞれ有する白金などからなる測定極10および対極11を埋設し、これらの電極系の露出部分を酸化還元酵素および電子受容体を担持した多孔体14で覆ったものである。試料液を多孔体14上へ滴下すると、試料液に多孔体中の酸化還元酵素と電子受容体が溶解し、試料液中の基質との間で酵素反応が進行し、電子受容体が還元される。酵素反応終了後、この還元された電子受容体を電気化学的に

酸化し、このとき得られる酸化電流値から試料液中の基質濃度を求める。

・発明が解決しようとする問題点

この様な従来の構成では、多孔体については、測定毎に取り替えることにより簡易に測定に供することができるが、電極系については洗浄等の操作が必要である。一方電極系をも含めて測定毎の使い棄てが可能となれば、測定操作上、極めて簡易になるものの、白金等の電極材料や構成等の面から、非常に高価なものにならざるを得ない。

本発明はこれらの点について種々検討の結果、電極系と多孔体を一体化することにより、生体試料中の特定成分を極めて容易に迅速かつ高精度に定量することのできる安価なディスプレイタイプのバイオセンサを提供するものである。

問題点を解決するための手段

本発明は上記問題点を解決するため、絶縁性の基板に少なくとも測定極と対極からなる電極系を設け、酵素と電子受容体と試料液を反応させ、前記反応に際しての物質濃度変化を電気化学的に前

記図である。ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性の基板1に、スクリーン印刷により導電性カーボンペーストを印刷し、加熱乾燥することにより、対極2、測定極3、参照極4からなる電極系を形成する。次に、電極系を部分的に覆い、各々の電極の電気化学的に作用する部分となる2'、3'、4'(各1mm<sup>2</sup>)を残す様に、絶縁性ペーストを前記同様印刷し、加熱処理して絶縁層5を形成する。

次に、2'、3'、4'の部分を研磨後、空気中で100℃にて4時間熱処理を施した。

次に穴を開けた樹脂製の保持枠6を絶縁層5に接着し、前記電極系2'、3'、4'を覆う様に多孔体7を穴の中に保持する。さらに多孔体より小さい径の開孔部を有する樹脂製カバー8を接着し、全体を一体化する。この一体化されたバイオセンサについて、測定極3に沿った断面図を第2図に示す。上記に用いた多孔体は、酸化還元酵素としてグルコースオキシダーゼ100mgと電子受容体としてフェリシアン化カリウム150mgをPH5.8

のリン酸緩衝液1mlに溶解した液をナイロン不織布に含浸後、減圧乾燥して作製したものである。上記の様に構成したグルコースセンサの多孔体へ試料液としてグルコース標準液を滴下し、滴下2分後に参照極を基準にして測定極に700mVのバース電圧を印加することによりアノード方向へ分極した。この場合、添加されたグルコースは多孔体に担持されたグルコースオキシダーゼの作用でフェリシアン化カリウムと反応してフェロシアン化カリウムを生成する。そこで、上記のアノード方向へのバース電圧の印加により、生成したフェロシアン化カリウム濃度に比例した酸化電流が得られ、この電流値は基質であるグルコース濃度に対応する。

作用

本発明によれば、電極系をも含めたディスプレイタイプのバイオセンサを構成することができ、試料液を多孔体に添加することにより、極めて容易に基質濃度を測定することができる。さらに、センサの保存寿命についても長期間安定させることができる。

実施例

以下、本発明の一実施例について説明する。

バイオセンサの一例として、グルコースセンサについて説明する。第1図は、グルコースセンサの一実施例について示したもので、構成部分の分

のリン酸緩衝液1mlに溶解した液をナイロン不織布に含浸後、減圧乾燥して作製したものである。

上記の様に構成したグルコースセンサの多孔体へ試料液としてグルコース標準液を滴下し、滴下2分後に参照極を基準にして測定極に700mVのバース電圧を印加することによりアノード方向へ分極した。この場合、添加されたグルコースは多孔体に担持されたグルコースオキシダーゼの作用でフェリシアン化カリウムと反応してフェロシアン化カリウムを生成する。そこで、上記のアノード方向へのバース電圧の印加により、生成したフェロシアン化カリウム濃度に比例した酸化電流が得られ、この電流値は基質であるグルコース濃度に対応する。

上記構成のグルコース測定用センサに90mg/dlのグルコース標準液を滴下し、2分後に700mVのバース電圧を印加し、印加10秒後の電流値を測定したところ、約3μAの応答が得られた。そこで次に、前記の熱処理工程の温度のみを100℃、70℃、60℃、50℃、熱処理なし、とした以

外は全く同様に構成したセンサを各々複数個作製し、 $30^{\circ}\text{C}$ にて保存し、前記グルコース標準液に対する応答変化を検討した。各々の熱処理温度の電極を用いたセンサについて、初度の応答電流を100%としたときの変化を第3図に示す。図より明らかなごとく、処理温度 $60^{\circ}\text{C}$ 以上では保存に伴う応答変化は少ないが $60^{\circ}\text{C}$ 、あるいは熱処理なしの場合には変動が大である。これは、研磨されたカーボン印刷電極表面の活性が安定していないことによるものと推定される。 $100^{\circ}\text{C}$ の場合最も安定した応答特性を示し、本発明者らの検討によれば熱処理温度の上限は基板の熱劣化等を考慮し $70^{\circ}\text{C}$ とするのがよいと考えられる。なお、電極面を研磨しない場合には、研磨した場合の約1/2の応答電流しか得られなかった。この様な研磨の有無による応答電流の違いは、ペースト中にバインダーとして含まれる樹脂成分などがカーボン表面を部分的に被覆していることによるものと考えられる。

電極系を形成する方法としてのスクリーン印刷

系、および酸化還元酵素と電子受容体を担持した多孔体を一体化することにより、極めて容易に生体試料中の基質濃度を測定することができ、かつ保存性にも優れたものである。

#### 4、図面の簡単な説明

第1図は本発明の一実施例であるバイオセンサの分解斜視図、第2図はその組立時の縦断面図、第3図はバイオセンサの保存と応答特性との関係を示す図、第4図は従来のバイオセンサの縦断面図である。

1……基板、2……対極、3……測定極、4……参照極、5……絶縁層、6……保持枠、7……多孔体、8……カバー。

代理人の氏名 弁理士 中 尾 敏 男 ほか1名

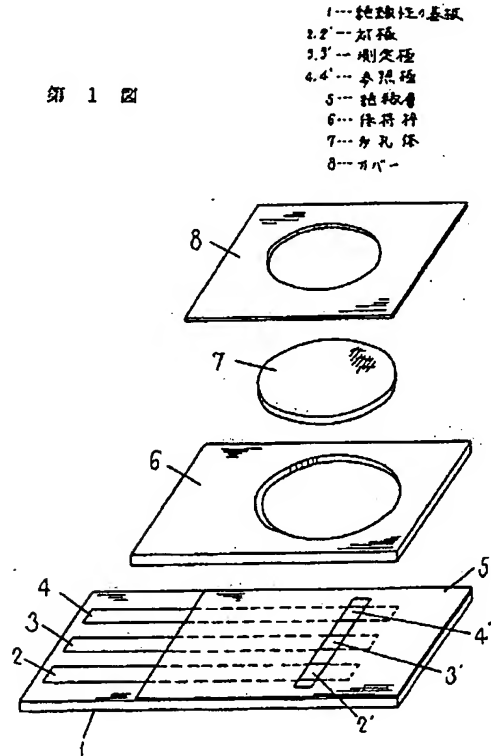
は、均一な特性を有するディスポーザブルタイプのバイオセンサを安価に製造することができ、特に、価格が安く、しかも安定した電極材料であるカーボンを用いて電極を形成するのに好都合な方法である。

本発明のバイオセンサにおける一体化の方法としては、実施例に示した枠体、カバーなどの形や組み合わせに限定されるものではない。また、用いる多孔体としては、ナイロン不織布以外に、セルロース、レーヨン、セラミック、ポリカーボネート等からなる多孔体を単独、あるいは組み合わせて用いることができる。さらに酸化還元酵素と電子受容体の組み合わせも前記実施例に限定されることはなく、本発明の主旨に合致するものであれば用いることができる。一方、上記実施例においては、電極系として3電極方式の場合について述べたが、対極と測定極からなる2電極方式でも測定は可能である。

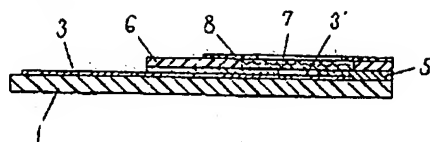
#### 発明の効果

本発明のバイオセンサは、絶縁性の基板、電極

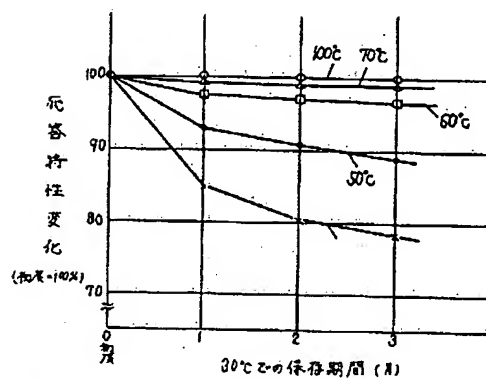
第 1 図



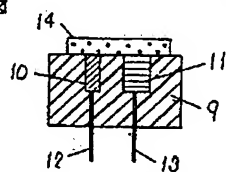
第 2 図



第 3 図



第 4 図



【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
【部門区分】第6部門第1区分  
【発行日】平成6年(1994)2月18日

【公開番号】特開昭63-3248  
【公開日】昭和63年(1988)1月8日  
【年通号数】公開特許公報63-33  
【出願番号】特願昭61-146391  
【国際特許分類第5版】

G01N 27/327  
27/28 331 Z 7235-2J

【F1】

G01N 27/30 353 R 7235-2J  
P 7235-2J

## 手続補正書

平成 5 年 4 月 1 日



特許庁長官殿

### 1 事件の表示

昭和61年特許願第 146391号

### 2 発明の名称

バイオセンサ

### 3 補正をする者

事件との関係 特許出願人  
住 所 大阪府門真市大字門真1006番地  
名 称 (582) 松下電器産業株式会社  
代 表 者 森 下 洋 一

### 4 代理人 〒571

住 所 大阪府門真市大字門真1006番地  
松下電器産業株式会社内

氏 名 (7242) 弁理士 小銀治 明  
(ほか2名)  
[通話先 電話(03)3434-9471 知的財産センター]



### 6、補正の内容

明細書第6ページ第19行目の「前記の熱処理工程の」を「前記の研磨後の熱処理工程の」に補正します。

### 6 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄